

MALARIA Ag CELISA

INTENDED USE AND PRINCIPLE OF THE TEST

The Malaria Ag CELISA™ kit has been designed as a confirmatory test for *falciparum* malaria in situations where traditional diagnosis is unclear, for screening blood transfusion products, or to confirm cases of travel-related infection. It is not intended to replace the conventional blood film diagnosis. The sandwich ELISA principle is employed. The microwells are pre-coated with anti-*P. falciparum* monoclonal capture antibody. A conjugate of enzyme labelled anti-*P. falciparum* monoclonal antibody is prepared and incorporated into the kit. The user adds a blood sample to the coated wells and if *P. falciparum* malaria antigen is present it binds to the coated well. All other blood components are removed by a washing step. The horse radish peroxidase enzyme labelled anti-malaria monoclonal indicator antibody conjugate is then added. It binds to any *falciparum* malaria antigen that has been captured on the well surface. The strip is then washed and the enzyme substrate solution is then added to the test wells and incubated. Colour generated indicates that *P. falciparum* malarial antigen in the test sample.

CONTENTS OF THE KIT

The Malaria Ag CELISA is available in 2 different formats:

		Standard	Bulk
MAMW	Celisa Plate ï 1x96 wells - (single use only)	2 plates	10 plates
CONTROL +	Positive Control	1 x 0.5mL	1 x 1.0mL
CONTROL -	Negative Control	1 x 2.5mL	1 x 5.0mL
MAPO	Enzyme Conjugate (200x)	1 x 0.12mL	1 x 0.7mL
MACD	Conjugate Diluent	1 x 24mL	1 x 120mL
MAPT	PBS/Tween (20x)	1 x 125mL	1 x 500mL
MASC	Substrate Chromogen (TMB) (20x)	1 x 1.2mL	1 x 7mL
MASB	Substrate Buffer	1 x 24mL	1 x 125mL
MASS	Stopping Solution	1 x 12mL	2 x 30mL

Store all components at 2-8°C.Expiry dates are clearly marked on each kit component and on the box. Expiry dates do not change once opened.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Malaria positive blood samples, distilled water, micropipettes and tips, clean glassware or plastic containers for solutions, humid chamber, ELISA washer, spectrophotometer to read absorbances at a single wavelength of 450nm, or at dual wavelengths of 450nm and 620nm.

PRECAUTIONS

For in vitro diagnostic use only. Reagents should not be used after the expiry date shown on the label. If protective packaging is damaged, contact your local distributor and ask for a replacement. Do not mix reagents from different kits. Thimerosal preservative added to some components is a poison. Exercise caution when handling these components. The stopping solution is corrosive. Avoid contact with skin, eyes and mucous membranes. Dispense all reagents with care to avoid cross contamination of wells. Avoid exposure of the substrate to light. Treat all clinical and control material as though potentially infectious and dispose of in accordance with local operating regulations. For further information, please refer to the Material Safety Data Sheet.

INSTRUCTIONS FOR USE

Preparation of Wash Buffer

If crystals are present, warm the concentrate to dissolve. For each microplate, add 50mL PBS-Tween concentrate MAPT to 950mL of distilled water. Label the bottle WASH BUFFER. Store at 2-8°C.

Preparation of Samples

Collect patient blood by standard venipuncture procedure using an anticoagulant. Lyse blood by freezing, use the lysed blood as the test specimen (SAMPLE). Serum or plasma may be used as an alternative to whole blood but the use of these samples may result in the loss of sensitivity. The blood should be stored below -10°C if the analysis is delayed.

Positive and Negative Controls

Each kit is provided with enough CONTROL + to run a 96 well plate. It is supplied neat and can be diluted 1 in 5 before using as a control. To construct a standard curve, serially dilute two-fold the CONTROL + use the CONTROL - (RPMI) as a diluent. Refer to a typical standardised curve below under "Reading and Interpretation of Results and Diagnosis".

Assay Procedure

1. Bring all reagents to room temperature (18-25°C) before use.
2. Prepare WASH BUFFER (see Preparation of Wash Buffer)
3. Remove required number of MAMW strips. Reseal the foil bag containing unused microwell strips immediately with tape.
4. Pipette 100µL of the SAMPLE, positive control (CONTROL + or known positive) and negative control (CONTROL - or MACD), into individual microwells. Include two positive and two negatives in each assay run. Cover and incubate for one (1) hour at room temperature in a humid chamber.
5. In the last 10 minutes of the incubation period, prepare the working strength CONJUGATE. Add 5µL of conjugate concentrate MAPO to 995µL of conjugate diluent MACD and mix thoroughly (allow 1mL per strip of 8 wells).
6. Wash the wells preferably using an automatic plate/strip washer or manually as follows:
   - Empty contents from the wells. Refill with the WASH BUFFER.
   - Repeat this process a further four (4) times. After the fifth wash, bang inverted wells dry on absorbent tissue.
   - NB: take care when flicking out plates, hold side of frame firmly to hold strips in place.
7. Add 100µL of CONJUGATE to each well. Incubate for one (1) hour at room temperature in a humid chamber.
8. In the last 10 minutes of the incubation period, prepare the working strength SUBSTRATE. Add 50µL of substrate chromogen MASC to 950µL of substrate buffer MASB and mix thoroughly (allow 1mL per strip of 8 wells). The stability of the solution is 30 minutes.
9. Repeat washing as in step 6.
10. Add 100µL of fresh SUBSTRATE and incubate in the dark (covered) at room temperature for 15 minutes.
11. Add 50µL of Stopping Solution MASS. Tap the plate to mix.
12. Read the results visually or in a spectrophotometer at 450nm, or 450nm/620nm, blanking the machine on air.

READING AND INTERPRETATION OF RESULTS AND DIAGNOSIS

Visually

Observe the colour intensity of the control and specimen wells. The Positive Control should be blue before, and yellow after stopping.

Photometrically

Read the microwell plate at 450nm or 450nm / 620nm in a compatible ELISA plate reader, blanked against air.

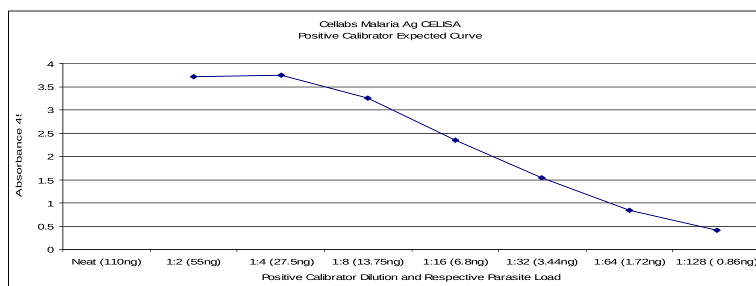
For the test results to be accepted the Negative Control must read as follows:

	O.D Value (450nm, 450/620nm)
Negative Control	< 0.2
Cut-Off level	= Negative control + 0.2

Negative blood samples should give optical density readings below 0.2 OD units. However, to allow for inter-laboratory variation we strongly recommend that each laboratory run a number of known negative blood samples to allow standardisation of the CELISA positive / negative cut-off level.

All specimens with an absorbance value above the cut-off level should be considered positive for *P. falciparum* antigen. A positive result indicates the presence of *P. falciparum* antigen. This is suggestive of current or very recent infection. The assay has been shown to detect *P. falciparum* infection at parasitaemias as low as 0.001%. The intensity of colour is not proportional to the level of parasitaemia. *P. vivax*, *P. ovale* and *P. malariae* infections are not detected. Please note that the test may remain positive for several days after parasites are no longer detectable in blood films.

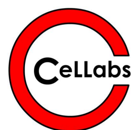
Typical standard curve and equivalent parasite load



WASTE DISPOSAL
Dispose of any unused components as biohazardous waste. For more information, please refer to the MSDS.

SENSITIVITY, SPECIFICITY, & OTHER DATA ON THE MALARIA AG CELISA
Refer to summary table at end of insert. All data on the Malaria Ag CELISA can be obtained in the product information sheet. Please ask your local distributor or contact Cellabs.

INDEMNITY NOTICE
Modifications or changes made in the recommended procedure may affect the stated or implied claims. A positive or negative result does not preclude the presence of other underlying causative agents. Cellabs and its agents and distributors shall not be liable for damages under these circumstances.



Français

MALARIA Ag CELISA

PRINCIPE DU TEST ET INDICATIONS D'EMPLOI
La trousse Malaria Ag CELISA™ est un test de confirmation de la malaria (paludisme) *falciparum* lorsque les méthodes traditionnelles sont peu concluantes, en transfusion sanguine ou pour confirmer des cas d'infection de voyageur. Ce test n'est pas conçu pour remplacer le diagnostic conventionnel à la goutte épaisse. Le test est un ELISA en sandwich. Les micropuits sont couverts d'un anticorps monoclonal de capture anti-*P.falciparum*. Un second anticorps monoclonal anti-*P.falciparum* conjugué à la peroxydase, fourni dans la trousse est ensuite préparé. L'utilisateur ajoute une goutte de sang dans le micropuits et si l'antigène de la malaria *falciparum* est présent, il se lie à la paroi du micropuits. Une étape de lavage permet d'éliminer tout composant sanguin restant. On ajoute alors un anticorps monoclonal de détection, conjugué à la peroxydase de raifort. Il se lie à l'antigène de la malaria *falciparum* immobilisé sur la paroi du micropuits. Les puits sont lavés et une solution substrat enzymatique est ajoutée au puits et incubée. La production de couleur indique la présence d'antigène de la malaria *falciparum* dans l'échantillon testé.

COMPOSITION DU COFFRET
La trousse Malaria Ag CELISA ™ est disponible en 2 formats :

		Standard	Recherche
MAMW	Plaque CELISA – 1x96 puits (usage unique)	2 plaques	10 plaques
CONTROL +	Contrôle positif	1 x 0.5L	1 x 1.0mL
CONTROL −	Contrôle négatif	1 x 2.5mL	1 x 5.0mL
MAPO	Conjugué enzymatique (200x)	1 x 0.12mL	1 x 0.7mL
MACD	Diluant pour conjugué	1 x 24mL	1 x 120mL
MAPT	PBS/Tween (20x)	1 x 125mL	1 x 500mL
MASC	Substrat chromogène (TMB) (20x)	1 x 1.2mL	1 x 7mL
MASB	Tampon de substrat	1 x 24mL	1 x 125mL
MASS	Solution d'arrêt	1 x 12mL	2 x 30mL

Conserver tous les composants à 2-8°C. Les dates de péremption sont clairement marquées sur chaque composant et sur le coffret de la trousse. L'ouverture n'altère pas les dates de péremption.

MATERIELS REQUIS NON FOURNIS
Echantillon sanguin positif pour la malaria; micropipettes et embouts; eau distillée, verrerie propre ou récipients plastiques pour solutions; chambre humide; laveur ELISA ou bouteille de rinçage; Spectrophotomètre à plaques ELISA capable de lire à 450 nm ou à 450/620 nm.

PRECAUTIONS
Produit à usage uniquement *in vitro*. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Si l'emballage est abîmé, contactez votre fournisseur local pour un remplacement. Ne pas mélanger les réactifs de coffrets différents. Certains réactifs contiennent du Thimerosal comme préservatif, qui est un poison. Manipulez ces réactifs avec soin. La solution d'arrêt est corrosive. Evitez tout contact avec la peau, les yeux ou les membranes muqueuses. Ajouter les réactifs en évitant tout risque de contamination croisée des puits. Eviter d'exposer le substrat à la lumière. Les échantillons cliniques et les contrôles doivent être considérés comme potentiellement infectieux et jetés selon les procédures en vigueur. Consultez la fiche de sécurité du produit (notice MSDS) pour plus amples informations.

INSTRUCTIONS D'EMPLOI

Préparation du tampon de lavage
Si des cristaux apparaissent dans le concentré, réchauffer le réactif pour les dissoudre. Pour chaque plaque de micropuits, ajouter 50mL de concentré PBS/Tween MAPT à 950mL d'eau distillée. Libeller la bouteille WASH BUFFER. Conserver à 2-8°C.

Préparation des échantillons
Collecter l'échantillon patient par ponction veineuse normal, sous anticoagulant. Congeler le sang pour produire un lysat, et utiliser ce lysat comme spécimen à doser SAMPLE. Le sérum ou le plasma peuvent être utilisés au lieu du sang total, mais l'emploi de ces échantillons risque de résulter en une sensibilité amoindrie du dosage. Le sang doit être conservé à -10°C si le dosage est retardé.

Contrôles positifs et négatifs

Chaque kit est fourni avec le CONTROL + suffisant pour faire fonctionner une plaque de 96 puits. Il est fourni propre et peut être dilué de 1 sur 5 avant d'utiliser en tant que contrôle. Pour construire une courbe standard, en série diluer double le CONTROL + , utiliser le CONTROL - en tant que diluant. Reportez-vous à une courbe typique standardisée ci-dessous sous la rubrique "LECTURE, INTERPRETATION DES RESULTATS ET DIAGNOSTIQUE"

Mode D'emploi

1. Ramener tous les réactifs à température ambiante (18-25 °C) avant l'emploi.
2. Préparer le WASH BUFFER (voir Préparation du Tampon de Lavage).
3. Retirer le nombre requis de micropuits MAMW. Immédiatement refermer le sac contenant les micropuits restants avec du ruban adhésif.
4. Ajouter 100µL de SAMPLE, de contrôle positif (CONTROL + ou échantillon patient positif) et de contrôle négatif (MACD ou CONTROL -) dans chaque micropuits. Inclure deux contrôles positifs et deux contrôles négatifs dans chaque série de dosage. Couvrir et incuber une (1) heure à température ambiante (TA).
5. Dans les 10 dernières minutes de l'incubation, préparer la solution de travail de CONJUGATE. Ajouter 5µL de conjugué concentré MAPO à 995µL de diluant de conjugué MACD et mélanger vigoureusement (prévoir 1 mL de solution de travail par barrette de 8 micropuits).
6. Laver les micropuits au laveur automatique ou manuellement comme suit :

   - Vider le contenu des micropuits. Remplir les micropuits de WASH BUFFER.
   - Répéter l'opération quatre (4) fois. Apres le cinquième lavage, rabattre vigoureusement la plaque de micropuits inversée sur une serviette absorbante jusqu'à ce qu'aucun liquide n'en sorte.
   - NB : opérez cette étape avec précaution, en serrant le cadre de la plaque à micropuits pour éviter qu'ils ne s'en délogent.
7. Ajouter 100µL de CONJUGATE dans chaque puits. Incuber une (1) heure à température ambiante (TA) en chambre humide.
8. Dans les 10 dernières minutes de l'incubation, préparer la solution de travail de SUBSTRATE. Ajouter 50µL de substrat chromogène MASC à 950µL de tampon de substrat MASB et mélanger vigoureusement (prévoir 1mL de solution de travail par barrette de 8 micropuits). Cette solution de travail est stable pendant 30 minutes.
9. Répéter le lavage comme à l'étape 6.
10. Ajouter 100µL de SUBSTRATE frais et incuber (couvert) à l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante.
11. Ajouter 50µL de solution d'arrêt MASS. Taper la plaque pour mélanger.
12. Lire les résultats visuellement ou au spectrophotomètre à 450 nm ou à 450nm/620 nm, calibré à l'air.

LECTURE, INTERPRETATION DES RESULTATS ET DIAGNOSTIQUE

Lecture visuelle

Observer l'intensité couleur des échantillons et des contrôles. Les contrôles positifs doivent être bleu avant l'étape de solution d'arrêt et jaune après.

Lecture spectrophotométrique

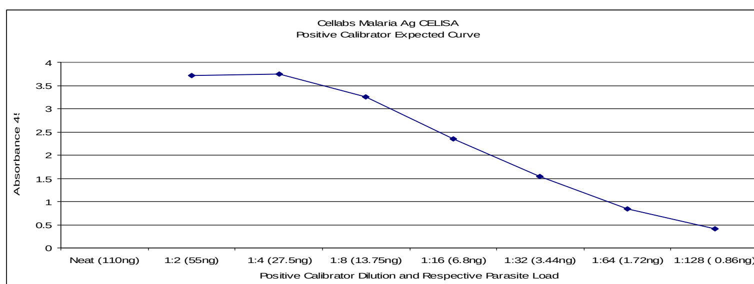
Lire les résultats dans un spectrophotomètre à microplaque ELISA calibré à l'air à 450 nm ou 450 nm/620 nm. Pour être valides, les valeurs de contrôles négatifs doivent être comme suit :

	OD Value (450nm, 450/620nm)
Contrôle négatif	< 0.2
Seuil discriminant (« cut off »)	D.O. du Contrôle Négatif + 0.2

Les échantillons de sang négatifs doivent donner une densité optique inférieure à 0.2 unités de D.O. Néanmoins, afin de compenser pour les variations inter laboratoires, nous recommandons à chaque laboratoire d'inclure un certain nombre d'échantillons négatifs confirmés afin d'étalonner le seuil discriminant entre positif et négatif.

Tout spécimen avec une absorbance supérieure au seuil discriminant doit être considéré comme positif pour l'antigène de *P. falciparum*. Un résultat positif indique la présence d'antigène de *P. falciparum*. Ceci suggère une infection en cours ou très récente. Il a été démontré que le dosage permet de détecter une infection à *P. falciparum* dans des parasitémies aussi faibles que 0.001%. L'intensité couleur n'est pas proportionnelle au niveau de parasitémie. Les infections à *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* ne sont pas détectées. Notez que le test peut demeurer positif plusieurs jours après que le parasites ait disparu des examens à la goutte épaisse.

Courbe standard type et la charge parasitaire équivalente



DECHETS

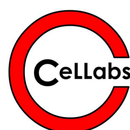
Jetez tout composant inutilisé dans la poubelle aux déchets biologiques. Consultez la fiche de sécurité du produit (notice MSDS) pour plus amples informations.

SENSIBILITE, SPECIFICITE ET AUTRES DONNEES DU TEST

Referez-vous au tableau récapitulatif en fin de notice. Toutes les données sur le test Malaria Ag CELISA sont sur la fiche technique du produit. Contactez Cellabs ou votre distributeur pour l'obtenir.

NOTICE D'INDEMNITE

Toute modification ou variation du protocole d'emploi recommandé peut affecter les performances annoncées du produit. Un résultat positif ou négatif n'exclue pas la présence d'autres agents causatifs sous-jacents. Cellabs et ses agents et distributeurs ne sont légalement responsables d'aucun dommage dans de telles circonstances.



Deutsch

MALARIA Ag CELISA

VERWENDUNGSZWECK UND TESTPRINZIP

Der Malaria Ag Celisa Kit dient als Bestätigungstest für *Plasmodium falciparum* in den Fällen, in denen die herkömmliche Diagnostik unklar ist, zur Überprüfung von Bluttransfusionsprodukten, oder als Bestätigungstest bei reisebedingten Infektionen. Der Test ist nicht geeignet, die konventionelle, mikroskopische Diagnostik zu ersetzen.Der Test arbeitet nach dem Sandwich ELISA-Prinzip. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte sind mit monoklonalem anti-*P. falciparum* Capture-Antikörper beschichtet. Ein monoklonaler, Enzym-konjugierter anti-*P.falciparum*-Antikörper ist im Kit integriert. Es werden Blutproben in die jeweiligen beschichteten Vertiefungen gegeben und falls *P.falciparum*-Malariaantigene vorhanden sind, werden sie in den beschichteten Vertiefungen gebunden. Alle anderen Blutbestandteile werden durch einen Waschschritt

entfernt. Anschließend gibt man einen mit Meerrettichperoxidase-konjugierten monoklonalen anti-*P. falciparum*-Malaria-Indikator-Antikörper hinzu . Er bindet jegliche *P. falciparum* Malaria-Antigene, die sich auf der Oberfläche der Vertiefungen befinden. Anschließend werden die Streifen gewaschen. Danach gibt man das Enzymsubstrat zu und inkubiert. Eine Farbentwicklung zeigt an, dass *P. falciparum* Malaria-Antigene in der Probe vorhanden sind.

PACKUNGSINHALT

Der Malaria Ag CELISA ist in 2 verschiedenen Größen erhältlich:

		Standard	Bulk
MAMW	Celisa Platte ï 1x96 Vertiefungen - (nur zum einmaligen Gebrauch)	2 Platten	10 Platten
CONTROL +	Positive Kontrolle	1 x 0.5mL	1 x 1.0mL
CONTROL -	Negative Kontrolle	1 x 2.5mL	1 x 5.0mL
MAPO	Enzymkonjugat (200x)	1 x 0.12mL	1 x 0.7mL
MACD	Konjugat-Verdünnungsmedium	1 x 24mL	1 x 120mL
MAPT	Waschpuffer PBS/Tween (20x)	1 x 125mL	1 x 500mL
MASC	Substrat-Chromogen (TMB) (20x)	1 x 1.2mL	1 x 7mL
MASB	Substratpuffer	1 x 24mL	1 x 125mL
MASS	Stopplösung	1 x 12mL	2 x 30mL

Alle Reagenzien sollten bei 2-8 °C gelagert werden. Das Verfalldatum ist auf allen Reagenzien und der Verpackung deutlich gekennzeichnet. Das Verfalldatum ändert sich nicht nach dem Öffnen.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Patientenserum, Mikropipetten mit Einwegspitzen, feuchte Kammer, saubere Glasbehälter oder Plastikbehälter für Lösungen, dest. Wasser, ELISA-Waschgerät, Spektrophotometer zum Ablesen der OD-Werte bei einzelner Wellenlänge von 450 nm oder bei doppelter Wellenlänge von 450 und 620 nm.

VORKEHRUNGEN

Nur für die *in vitro.* Diagnostik Reagenzien dürfen nicht nach dem Verfalldatum benutzt werden. Falls die Verpackung beschädigt wurde, bitte bei unserem Vertreiber Ersatz anfordern. Reagenzien von unterschiedlichen Kits sollten nicht zusammen verwendet werden. Das Thimerosal-Konservierungsmittel, das bei manchen Bestandteilen hinzugefügt wurde, ist giftig. Die Reagenzien sollten daher mit Vorsicht verwendet werden. Die Stopplösung ist ätzend. Kontakt mit der Haut, den Augen und Schleimhäuten vermeiden. Alle Reagenzien sorgfältig pipettieren, um Kreuzkontamination der Mikrotiterplattenvertiefungen zu vermeiden. Das Substrat sollte nicht dem Licht ausgesetzt werden. Alle klinischen und Kontrollmaterialien sollten behandelt werden, als wären sie potentiell infektiös und nach den jeweils laborüblichen Vorschriften entsorgt werden. Für weitere Informationen siehe die Sicherheitsdatenblätter.

GEBRAUCHSANLEITUNG

Ansetzen des Waschpuffers

Falls sich Kristalle im Konzentrat befinden, sollte es erwärmt werden, bis sich alles gelöst hat. Für je eine Microtitterplatte 50mL PBS-Tween Konzentrat MAPT verwenden und mit 950mL dest. Wasser mischen. In eine Flasche geben, mit WASH BUFFER, beschriften und bei 2-8 °C. lagern.

Probenvorbereitung

Vollblut durch die Standard-Venenpunktionsmethode unter Zusatz von gerinnungshemmendem Mittel gewinnen. Blut durch Einfrieren lysieren, anschließend das Material zum SAMPLE Testen verwenden. Als alternatives Material können auch Serum oder Plasma verwenden werden, jedoch können die Ergebnisse im Vergleich zum Vollblut einen Sensitivitätsverlust beinhalten.Bei nicht sofortiger Testung Blut unter ï 10 °C lagern..

Positiv - und Negativkontrollen

Jedes Kit wird mit genügend CONTROL + vorgesehen, um eine 96-Well-Platte laufen. Es wird geliefert ordentlich und kann verdünnt 1 in 5 vor der Verwendung als Kontrolle werden. Um eine Standardkurve zu erstellen, seriell zweifach verdünnt die CONTROL +, verwenden Sie die CONTROL - als Verdünnungsmittel. Beziehen sich auf eine typische standardisierte Kurve unten unter "INTERPRETATION DER ERGEBNISSE"

Testdurchführung

1. Vor Gebrauch,alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen.
2. WASH BUFFER vorbereiten (siehe oben).
3. Die entsprechende Anzahl an MAMW Streifen herausnehmen. Danach die Verpackung mit unbenützten Mikrotiter-Streifen sofort wieder mit Klebeband verschließen.
4. 100µL der SAMPLE, Positivkontrolle CONTROL + und Negativkontrolle CONTROL - oder MACD, in die einzelnen Vertiefungen pipettieren. Es sollten bei jedem Testansatz je 2 Kontrollen verwendet werden. Anschließend die Sreifen abdecken und in der feuchten Kammer für 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubieren.
5. In den letzten 10 Minuten der Inkubationszeit das CONJUGATE vorbereiten. 5µL des Konjugat-Konzentrat MAPO zu 995µL des Konjugat-Verdünnungsmediums MACD geben und gut mischen (pro Streifen mit 8 Vertiefungen 1mL Lösung herstellen).
6. Die Streifen bevorzugt mit einem Waschautomaten waschen, ansonsten per Hand:

   - Den Inhalt der Vertiefungen ausleeren und WASH BUFFER hinzugeben.

   - Das Ganze 4 mal wiederholen. Nach dem fünften Mal restliche Tropfen durch Klopfen der umgekehrten Platte auf einem Papierhandtuch entfernen. Vorsicht !!! Streifen können aus der Halterung herausfallen.
7. 100µL CONJUGATE in jede Vertiefung pipettieren Anschließend die Sreifen abdecken und in der feuchten Kammer für 1 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren
8. In den letzten 10 Minuten der Inkubationszeit das SUBSTRATE vorbereiten. 50µL des Substrat-Chromogens MASC zu 950µL des Substratpuffers MASB geben und gut mischen. (pro Streifen mit 8 Vertiefungen 1mL Lösung herstellen). Die Lösung ist bis zu 30 Minuten stabil.
9. Waschschritte wie unter Punkt 6.
10. 100µL SUBSTRATE in jede Vertiefung pipettieren, dann im Dunkeln zugedeckt 15 Minuten bei Ramtemperatur inkubieren .
11. 50µL Stopplösung MASS in jede Vertiefung pipettieren, Platte vorsichtig bewegen, so dass sich die Lösungen vermischen.
12. Die Ergebnisse entweder mit dem Auge ablesen oder mit dem Spektrophotometer bei 450nm, oder 450nm/620nm, Nullwert gegen Luft abgleichen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Visuel

Die Farbintensitäten der Kontrollen und Patienten begutachten. Die Positivkontrolle sollte erst blau sein und nach Zugabe der Stopplösung zu Gelb wechseln.

Photometrisch

OD-Werte in den Microtittervertiefungen bei 450nm oder 450nm / 620nm mit einem geeigneten ELISA Meßgerät ablesen, Nullwert gegen Luft abgleichen.

Für valide Meßergebnisse muß die Negativkontrolle wie folgt aussehen:

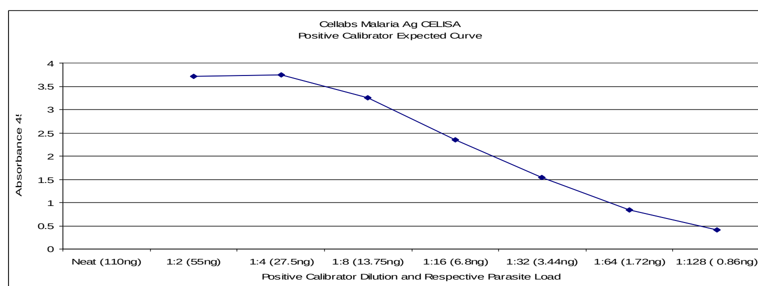
	O.D Value (450nm, 450/620nm)
Negativkontrolle	< 0.2
Cut-Off level	= OD Negativkontrolle + 0.2

Negative Blutproben sollten einen Meßwert OD <0.2 haben. Unter Berücksichtigung der Inter-Laborvarianz empfehlen wir jedoch, daß jedes Labor einige bekannt negative Blutproben mißt um eine laborinterne Standardisierung des CELISA positiven/negativen Cut-off ï Levels zu erhalten.

Alle Proben, die einen höheren Meßwert , als der Cut-off, haben, sollten als *P. falciparum* Antigen-positive Proben betrachtet werden. Ein positives Ergebnis deutet auf eine aktuelle oder erst kürzlich erfolgte Infektion hin. Die Testgenauigkeit hat gezeigt, dass *P. falciparum* Infektionen bei Parasitaemien,mit einer Empfindlichkeit bis zu 0.001% entdeckt werden. Die Intensität der Farbe ist nicht proportional zu der Menge der Parasitaemien.

P. vivax, *P. ovale* und *P. malariae* Infektionen werden mit diesem Test nicht nachgewiesen. Es ist zu beachten,, daß der Test auch noch einige Tage später positiv sein kann, obwohl man unter dem Mikroskop keine Parasiten mehr entdecken kann.

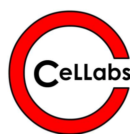
Typische Standardkurve und gleichwertige Parasitenbelastung



ENTSORGUNG
Alle nicht benötigten Komponenten müssen als biogefährdender Müll entsorgt werden. Für weitere Informationen, siehe Sicherheitsdatenblätter (MSDS).

SENSITIVITÄT, SPEZIFITÄT UND ANDERE DATEN ZU DEM MALARIA AG CELISA
Siehe zusammenfassende Tabelle am Ende dieser Anleitung. Alle Daten zu dem Malaria Ag CELISA können aus der Produktinformation entnommen werden. Bitte fragen sie ihren Vertreiber oder kontaktieren sie Cellabs.

HAFTUNGSAUSSCHLUSS
Änderungen oder Modifikationen der empfohlenen Durchführung können die gemachten oder gefolgerten Angaben beeinflussen. Ein positives oder negatives Ergebnis schließt nicht andere zugrunde- liegende Krankheiten aus. Cellabs und seine Vertreiber sind für Folgen derartiger Konstellation nicht haftbar.



Italiano

MALARIA Ag CELISA

FINALITA' D'USO E PRINCIPIO DEL TEST
Malaria Ag CELISA™ kit è stato ideato quale test di conferma per la malaria causata da *P.falciparum* da usare in situazione di diagnosi dubbia, per lo screening di emoderivati per trasfusione sanguigna, o per confermare i casi di infezione correlata a viaggi in zone endemiche. Il test **non** intende sostituire la diagnosi convenzionale su striscio di sangue. Il test sfrutta il principio ELISA a ñsandwichò. I pozzetti della micropiastra sono sensibilizzati con anticorpi monoclonali di cattura anti- *P. falciparum*. Nel kit è incluso un coniugato, anticorpo monoclonale anti- *P. falciparum*, marcato con enzima. Il campione di sangue va aggiunto nei pozzetti sensibilizzati e, se è presente lôantigene di *P. falciparum* , si lega alla parete del pozzetto. Tutti gli altri componenti del campione, sono rimossi dal lavaggio. Si aggiunge quindi lôanticorpo rilevatore anti-malaria, marcato con perossidasi di rafano. Questo si lega ad ogni antigene di malaria *falciparum*, catturato sulla superficie del pozzetto. La striscia viene lavata, si aggiunge a ciascun pozzetto la soluzione substrato e si procede allôincubazione. La formazione di colore indica la presenza nel campione dellôantigene malarico *P. falciparum.*

CONTENUTO DEL KIT
Il kit Malaria Ag CELISA è disponibile in diversi formati:

		Standard	Bulk
MAMW	Celisa Plate ï 1x96 pozzetti - (solo uso singolo)	2 piastre	10 piastre
CONTROL +	Controllo Positivo	1 x 0.5mL	1 x 1.0mL
CONTROL −	Controllo Negativo	1 x 2.5mL	1 x 5.0mL
MAPO	Enzima Coniugato (200x)	1 x 0.12mL	1 x 0.7mL
MACD	Diluente Coniugato	1 x 24mL	1 x 120mL
MAPT	PBS/Tween (20x)	1 x 125mL	1 x 500mL
MASC	Substrato Cromogeno (TMB) (20x)	1 x 1.2mL	1 x 7mL
MASB	Tampone Substrato	1 x 24mL	1 x 125mL
MASS	Soluzione Bloccante	1 x 12mL	2 x 30mL

Conservare tutti I componenti a 2-8°C. Le date di scadenza sono chiaramente marcate su ogni componente del kit e sulla confezione. Le date di scadenza non cambiano una volta aperte le confezioni.

MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO
Campioni di sangue positivi, acqua distillata, micropipette e puntali, contenitori puliti di vetro o plastica per le soluzioni, camera umida, lavatore ELISA, spettrofotometro in grado di leggere lôassorbanza alla singola lunghezza dôonda di 450nm, o alla doppia lunghezza dôonda di 450nm e 620nm.

PRECAUZIONI
Solo per uso diagnostico *in vitro*. Non usare dopo la data di scadenza mostrata sullôetichetta. Se lôimballo protettivo è danneggiato, contattare il distributore di zona e chiedere una sostituzione. Non mischiare i componenti provenienti da kit diversi. Il Thimerosal aggiunto come conservante ad alcuni componenti è velenoso. Prestare attenzione quando si maneggiano questi componenti. La soluzione bloccante è corrosiva. Evitare il contatto con la pelle, gli occhi e le membrane mucose. Distribuire tutti i reagenti con attenzione per evitare contaminazioni crociate dei pozzetti. Evitare di esporre il substrato alla luce. si raccomanda di maneggiare tutto il materiale clinico e di controllo come potenzialmente infettivo e di eliminarlo in accordo alla regolamentazione locale. Per maggiori informazioni consultare la scheda di sicurezza del prodotto (MSDS).

ISTRUZIONI PER L'USO

Preparazione del tampone di lavaggio
Se sono presenti cristalli, scaldare il concentrato per discioglierli. Per ciascuna micropiastra, aggiungere 50mL si PBS-Tween concentrato MAPT a 950mL di acqua distillata. Etichettare il flacone WASH BUFFER. Conservare a 2-8°C.

Preparazione del campione
Raccogliere il sangue del paziente mediante prelievo venoso standard, usando un anticoagulante. Lisare il sangue per congelamento, usare il sangue lisato come campione (SAMPLE). In alternativa possono essere usati il siero o il plasma, sebbene questo possa causare una perdita di sensibilità. Se lôanalisi viene eseguita in ritardo, il sangue deve essere conservato al di sotto dei -10°C.

Controlli positivi e negativi
Ogni kit è fornito con abbastanza CONTROL + per eseguire una piastra a 96 pozzetti. Viene fornito ordinato e possono essere diluito 1 a 5 prima di usare come controllo. Per costruire una curva standard, diluire serialmente due volte il CONTROL + , utilizzare il CONTROL − come diluente. Fare riferimento a una tipica curva standard di seguito nella sezione "LETTURA INTERPRETAZIONE E DIAGNOSI".

Procedura del Saggio

1. Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (18-25 °C) prima dell'uso.
2. Preparare WASH BUFFER (vedere Preparazione del tampone di lavaggio)
3. Rimuovere il numero richiesto di strisce MAMW . Sigillare immediatamente la confezione di strisce dei micropozzetti non utilizzati con nastro adesivo.
4. Pipettare 100µL del SAMPLE, controllo positivo (CONTROL + o positivo noto) e controllo negativo (CONTROL - o MACD), in ciascun pozzetto. Includere due positivi e due negativi in ciascuna seduta analitica. Coprire ed incubare per un (1) ora a temperature ambiente in camera umida.
5. Durante i primi 10 minuti di incubazione, preparare la soluzione di lavoro di CONJUGATE. Aggiungere 5µL di coniugato concentrato MAPO a 995µL di diluente del coniugato MACD e mescolare con attenzione (usare 1mL per strip da 8 pozzetti).
6. Lavare i pozzetti usando preferibilmente un lavatore automatico di piastre/strisce o manualmente come segue:
   - Svuotare i pozzetti. Riempire con WASH BUFFER.
   - Ripetere questa procedura per altre quattro (4) volte. Dopo il quinto lavaggio, battere la piastra rovesciata su tessuto assorbente.
   - Nota: fare attenzione durante l'operazione a mantenere saldamente il supporto della piastra, per tenere le strisce in posizione.
7. Aggiungere 100µL di CONJUGATE a ciascun pozzetto. Incubare per un (1) ora a temperatura ambiente in camera umida.
8. Durante gli ultimi 10 minuti di incubazione, preparare la soluzione di lavoro SUBSTRATE. Aggiungere 50µL di substrato cromogeno MASC a 950µL di tampone del substrato MASB e mescolare con attenzione (usare 1mL per strip da 8 pozzetti). La stabilità della soluzione è di 30 minuti.
9. Ripetere i lavaggi del passaggio 6.
10. Aggiungere 100µL di substrato fresco SUBSTRATE e incubare al buio (coprire) a temperatura ambiente per 15 minuti.
11. Aggiungere 50µL di Soluzione Bloccante MASS. Picchiettare la piastra per mescolare.
12. Leggere il risultato visualmente o con lo spettrofotometro a 450nm, o a 450nm/620nm, usando l'aria come bianco.

LETTURA INTERPRETAZIONE E DIAGNOSI

Visivamente

Osservare l'intensità del colore nei pozzetti di controllo e dei campioni. Il Controllo Positivo deve essere blu prima dell'aggiunta della soluzione di bloccaggio e giallo dopo l'aggiunta.

Fotometricamente

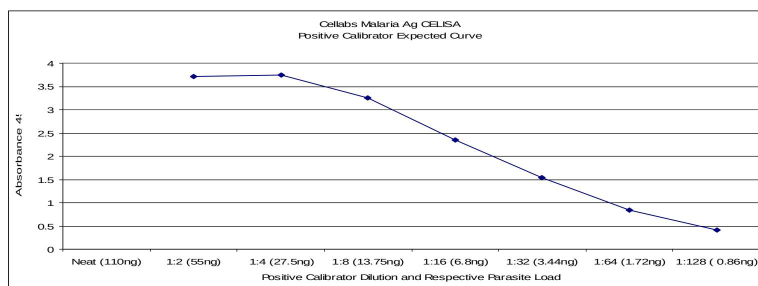
Leggere i micropozzetti a 450nm o a 450nm / 620nm in un lettore di piastra ELISA, usando l'aria come bianco.
Per accettare i risultati il Controllo Negativo deve fornire i seguenti risultati:

	Valori D.O.(450nm, 450/620nm)
Controllo Negativo	< 0.2
Livello Cut-Off	= D.O. Controllo Negativo + 0.2

I campioni di sangue negativi, devono fornire letture di densità ottica inferiori a 0,2 unità di DO. Tuttavia, per tenere conto delle variabilità inter – laboratorio è fortemente raccomandato, che ciascun laboratorio esegua un certo numero di campioni negativi noti per standardizzare il livello di cut-off positivo / negativo del kit CELISA.

Tutti i campioni con un valore di assorbanza superiore al livello di cut-off, devono essere considerati positivi per l'antigene *P. falciparum*. Un risultato positivo indica la presenza dell'antigene *P. falciparum*. Questo risultato suggerisce un'infezione in corso o molto recente. Il test ha dimostrato di rilevare l'infezioni da *P.falciparum*, in parassitemie dello 0,001%. L'intensità del colore non è proporzionale al livello di parassitemia. Le infezioni sostenute da *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae* non sono rilevate dal kit. Tenere presente, inoltre, che il test può rimanere positivo per molti giorni anche dopo che il parassita non è più rilevabile negli strisci di sangue.

Tipica curva standard e carico parassita equivalente



SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

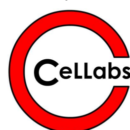
Eliminare qualsiasi componente non utilizzato come rifiuto potenzialmente infettivo. Per maggiori informazioni consultare la scheda di sicurezza (MSDS).

SENSIBILITA', SPECIFICITA' ED ALTRI DATI SU MALARIA AG CELISA

Fare riferimento alle tabelle riassuntive alla fine del foglio istruzione. Tutti i dati su Malaria Ag CELISA sono disponibili sul foglio di istruzioni che è possibile richiedere al distributore di zona o contattando Cellabs.

AVVERTENZE SULL'INDENNIZZO

Modifiche o cambiamenti apportati alla procedura raccomandata possono modificare lo stato o causare reclami. Un risultato positivo o negativo non preclude la presenza di altri importanti agenti eziologici. Cellabs ed i suoi distributori non sono legalmente responsabili dei danni nel caso di tali circostanze.



Español

MALARIA Ag CELISA

APLICACIONES Y PRINCIPIO DEL TEST

El kit Malaria Ag Celisa™ se ha diseñado para utilizarse como un test de confirmación para malaria *falciparum* en situaciones en las que el diagnóstico tradicional es incierto, para el análisis del material para transfusiones de sangre, o para confirmar casos de infecciones relacionadas con viajes. No se pretende que reemplaze a los diagnósticos convencionales en sangre. El principio empleado es el "sandwich" ELISA. Los micropocillos están recubiertos con el anticuerpo monoclonal de captura anti-*P. falciparum*. En el kit viene incluido un conjugado preparado de anticuerpo monoclonal anti-*P. falciparum* conjugado con el enzima. El usuario añade una muestra de sangre a los pocillos recubiertos, y si el antígeno de la malaria *P. falciparum* se halla presente se une al micropocillo. El resto de componentes de la sangre sin unir se eliminan con un paso de lavado. Se añade posteriormente el conjugado formado por el anticuerpo monoclonal anti-malaria conjugado con peroxidasa. Este se une a cualquier antígeno de malaria *falciparum* que haya sido capturado en la superficie del pocillo. La tira se lava y se añade a los pocillos la solución de substrato del enzima y se deja incubar. El color generado indica que el antígeno de la malaria *P. falciparum* está presente en la muestra.

CONTENIDO DEL KIT

El Malaria Ag CELISA está disponible en 2 formatos diferentes

		Estándar	Bulk
MAMW	Placa Celisa ï 1 x 96 pocillos (un único uso)	2 placas	10 placas
CONTROL +	Control Positivo	1 x 0.5mL	1 x 1.0mL
CONTROL -	Control Negativo	1 x 2.5mL	1 x 5.0mL
MAPO	Conjugado del enzima (200x)	1 x 0.12mL	1 x 0.7mL
MACD	Diluyente del conjugado	1 x 24mL	1 x 120mL
MAPT	PBS/Tween (20x)	1 x 125mL	1 x 500mL
MASC	Cromógeno del Substrato (TMB) (20x)	1 x 1.2mL	1 x 7mL
MASB	Solución de substrato	1 x 24mL	1 x 125mL
MASS	Solución de parada	1 x 12mL	2 x 30mL

Almacenar todos los componentes a 2-8°C. Las fechas de caducidad están indicadas específicamente en cada uno de los componentes del kit y en el envase externo del mismo. Las fechas de caducidad no cambian tras la apertura de los viales

MATERIALES REQUERIDOS QUE NO SE PROPORCIONAN

Muestras de sangre positivas para la malaria, acqua distillata, micropipetas y puntas, limpios de vidrio o plástico para las soluciones recipientes, cámara húmeda, lavador de ELISA, Espectrofotómetro para leer absorbancias a una única longitud de onda única de 450nm, o a longitudes de onda duales de 450nm y 620nm, agua destilada.

PRECAUCIONES

Para utilización exclusiva en el diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Si se observase que el envase exterior está dañado, contactar con su distribuidor local y solicitar un kit nuevo. El conservante timerosal añadido a algunos componentes es un veneno. La manipulación de estos componentes debe realizarse con precaución. La solución de parada es corrosiva. Evitar el contacto con la piel, ojos y mucosas. Añadir todos los reactivos con cuidado para evitar la contaminación cruzada entre unos pocillos y otros. Evitar exponer el substrato a la luz. Tratar todas las muestras clínicas y los controles como material potencialmente infeccioso y eliminar de acuerdo con la normativa local. Para más información al respecto, consultar la ficha de seguridad (FDS).

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación de la solución de lavado

Si se observa cristalización en el concentrado, disolverpor calentamiento. Para cada microplaca añadir 50mL de PBS-Tween 20 concentrado MAPT a 950mL de agua destilada. Etiquetar el frasco como WASH BUFFER y almacenar de 2 a 8°C.

Preparación de las Muestras

Recoger la muestra de sangre del paciente por el procedimiento estándar de venopunción empleando un anticoagulante. Lisar la sangre congelándola y usar la sangre lisada como muestra para el ensayo. Puede emplearse suero o plasma como alternativa a la sangre completa, pero el uso de estas muestras puede tener como resultado una pérdida de sensibilidad. Hay que almacenar la sangre a menos de -10°C si no se realiza el análisis de inmediato.

Controles Positivos y Negativos

Cada kit se suministra con el CONTROL + suficiente para hacer funcionar una placa de 96 pocillos. Se suministra limpio y se puede diluir 1 en 5 antes de usar como un control. Para construir una curva estándar, en serie diluir dos veces el CONTROL +, utiliza el CONTROL - como un diluyente. Consulte a una curva típica normalizada más adelante en "Lectura e interpretación de los resultados y diagnóstico"

Procedimiento del ensayo

1. Permitir que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (de 18 a 25 ^{o}C) antes de su uso.
2. Preparar la solución de lavado WASH BUFFER (ver preparación de solución de lavado)
3. Retirar el número necesario de tiras MAMW. Volver a sellar la bolsa de aluminio con las tiras de los micropocillos sin usar inmediatamente con el autocierre.
4. Pipetear 100µL de la muestra SAMPLE, el control positivo (CONTROL + o muestra conocida positiva) y control negativo (CONTROL - o MACD) , a sus micropocillos individuales. Incluir dos controles positivos y dos controles negativos en cada fase del ensayo. Tapar e incubar durante una (1) hora a temperatura ambiente (TA) en una cámara húmeda.
5. En los últimos 10 minutos del periodo de incubación, preparar el CONJUGATE a la dilución de trabajo. Añadir 5µL de conjugado concentrado MAPO a 995µL de diluyente de conjugado MACD y mezclar completamente (preparar 1mL para cada tira de 8 pocillos).
6. Lavar los pocillos, preferentemente con un lavador de placas automático, o bien de forma manual como sigue:
   - Vaciar el contenido de los pocillos. Rellenar con WASH BUFFER.
   - Repetir este proceso otras cuatro (4) veces. Sacudir para eliminar los contenidos de los pocillos al final del último lavado
   - NB: Al voltear las placas; tener la precaución de sujetar firmemente el lado del soporte para mantener las tiras en su lugar.
7. Añadir 100µL de CONJUGATE a cada pocillo. Incubar durante una (1) hora a temperatura ambiente (TA) en una cámara húmeda.
8. En los últimos 10 minutos del periodo de incubación, preparar el SUBSTRATE a la dilución de trabajo. Añadir 50µL de cromógeno de substrato MASC a 950µL de solución de substrato MASB y mezclar bien (preparar 1mL para cada tira de 8 pocillos). La estabilidad de la solución es de 30 minutos.
9. Repetir lavado como en el paso 6.
10. Añadir 100µL de SUBSTRATE fresco e incubar en la oscuridad (tapado) a tª ambiente durante 15 minutos.
11. Añadir 50µL de solución de parada MASS. Golpear suavemente la placa para mezclar.
12. Leer los resultados de forma visual o con un espectrofotómetro a 450nm, o 450nm/620nm, calibrando el instrumento utilizando como blanco un pocillo vacío.

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS Y DIAGNOSTICO

Visualmente

Observar la intensidad del color de los pocillos de control y de la muestra. El control positivo debería ser azul antes y amarillo después de parar la reacción.

Por fotometría

Leer la microplaca a 450nm o 450nm / 620nm en un lector compatible con placas de ELISA, calibrado con un pocillo vacío como blanco.

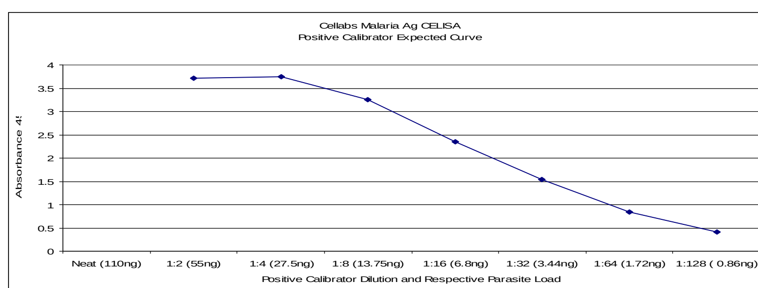
Para aceptar los resultados del test, el control negativo tiene que mostrar los siguientes valores:

	Valor O.D (450nm, 450/620nm)
control negativo	< 0.2
nivel Cut-Off	= OD control negativo + 0.2

Las muestras de sangre negativas deberían dar una densidad óptica por debajo de 0.2 unidades OD. Sin embargo, para dar un margen a la variación entre distintos laboratorios creemos muy aconsejable que cada laboratorio realice el ensayo de una serie de muestras de sangre negativas conocidas que permita la estandarización del valor cut-off positivo/negativo para el CELISA.

Todas las muestras con un valor de absorbancia por encima del valor del cut off tienen que considerarse como positivas para el antígeno del *P. falciparum*. Un resultado positivo indica la presencia del antígeno del *P. falciparum*. Esto sugiere una infección actual o muy reciente. Se ha demostrado que este ensayo detecta la infección por *P. falciparum* en parasitemias tan pequeñas como del 0.001%. La intensidad del color no es proporcional al nivel de parasitemia. El test no detecta las infecciones por *P. vivax*, *P. ovale* and *P. malariae*. Debe tenerse en cuenta que el test puede seguir dando resultado positivo durante varios días aun después de que los parásitos ya no sean detectables en los ensayos clásicos en sangre.

Curva típica estándar y equivalente a la carga parasitaria



ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS

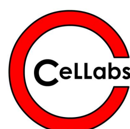
Los componentes sin usar deben eliminarse como material de riesgo biológico. Para más información, consultar la ficha de seguridad FDS.

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, Y OTROS DATOS DEL THE MALARIA AG CELISA

Consultar la tabla resumen al final de este manual de instrucciones. Todos los datos del Malaria Ag CELISA pueden obtenerse en la ficha técnica del producto. Para más información, consultar con su distribuidor local o contactar con Cellabs.

INFORMACION SOBRE POSIBLES INDEMNIZACIONES

Las modificaciones o cambios realizados sobre el procedimiento recomendado pueden afectar a las posibles reclamaciones tanto directa como indirectamente. Un resultado positivo o negativo no excluye la presencia de otros agentes etiológicos subyacentes. Ni Cellabs ni sus agentes o distribuidores serán legalmente responsables por daños producidos bajo estas circunstancias.



Portuguese

MALARIA Ag CELISA

UTILIZAÇÃO E PRINCÍPIO DO TESTE

O Malaria Ag CELISA™ destina-se à confirmação do teste de *falciparum* malaria em casos onde o diagnóstico tradicional se apresenta duvidoso, no rastreio de sangue proveniente de transfusões ou para a confirmação de casos de infecções relacionadas com viagens. **Não** pretende substituir o diagnóstico de sangue convencional. É utilizado o princípio de sandwich, ELISA. Os micropoços estão revestidos com anticorpos monoclonais de captura contra *P. falciparum*. O conjugado enzimático marcado com anticorpos monoclonais anti-*P. falciparum* está incluído no kit. Ao pipetar as amostras de sangue nos poços revestidos, o antigénio *P. falciparum* malaria que estiver presente na amostra irá ligar-se ao revestimento dos poços. Os restantes componentes do soro são removidos através de lavagem. O conjugado é adicionado, ligando-se ao antigénio *falciparum* malaria fixado no poço. Lavar os poços e adicionar a solução de substrato e incubar. A cor que é gerada indica a presença do antigénio de malária *P. falciparum* presente nos soros que estão a ser testados.

CONTEÚDO DO KIT

O kit Malaria Ag CELISA está disponível em 2 formatos:

		Standard	***Bulk***
MAMW	Placas Celisaï 1x96 poços - (para uma utilização)	2 Placas	10 Placas
CONTROL +	Controlo Positivo	1 x 0.5mL	1 x 1.0mL
CONTROL -	Controlo Negativo	1 x 2.5mL	1 x 5.0mL
MAPO	Conjugado Enzimático (200x)	1 x 0.12mL	1 x 0.7mL
MACD	Diluente do Conjugado	1 x 24mL	1 x 120mL
MAPT	Tampão PBS/Tween (20x)	1 x 125mL	1 x 500mL
MASC	Substrato Cromogénio (TMB) (20x)	1 x 1.2mL	1 x 7mL
MASB	Tampão Substrato	1 x 24mL	1 x 125mL
MASS	Solução de Paragem	1 x 12mL	2 x 30mL

Conservar a 2-8°C. As datas de validade estão referidas em cada componente do kit e na embalagem. Os prazos de validade não se alteram com a abertura dos componentes.

MATERIAL NECESSÁRIO MAS NÃO FORNECIDO

Amostras de sangue positivas para malária, água destilada, micropipetas com pontas descartáveis, recipientes para as soluções, câmara húmida, Lavador ELISA, Espectrofotómetro capaz de ler absorvâncias, a 450 nm ou 450/620 nm.

PRECAUÇÕES

Apenas para diagnóstico *in* vitro. Não utilizar após ter terminado o prazo de validade. Se a embalagem estiver danificada, contactar o representante local e pedir a substituição por uma nova. Não misturar componentes de kits diferentes. O conservante de Timerosal, adicionado a determinados componentes, é tóxico. Cuidado ao manusear estes componentes. A solução de paragem é corrosiva. Evitar o contacto com a pele, olhos e mucosas. Pipetar os reagentes com cuidado para evitar contaminação dos poços. Evitar exposição do substrato à luz. Todo o material analítico e de controlo deve ser tratado como potencialmente infeccioso e deverá ser descartado segundo as normas em vigor. Consultar a ficha de segurança do produto (MSDS) para mais informações.

INSTRUÇÕES DE USO

Preparação do Tampão de Lavagem

Se surgirem cristais nas soluções concentradas, aquecer para dissolvê- los. Por cada microplaca adicionar 50mL de PBS-Tween concentrado MAPT a 950mL de água destilada. Colocar rótulo WASH BUFFER para identificar o frasco e conservar a 2-8°C.

Preparação das Amostras

Colher as amostras através de venipunctura com a utilização de um anti-coagulante. Provocar a lise do sangue através do seu congelamento, utilizar o sangue como amostra depois de efectuada a lise (SAMPLE). Podem ser utilizadas amostras de soro ou plasma, em alternativa ao sangue total. Contudo, a utilização destas amostras poderá provocar a perda de sensibilidade. O sangue deve ser conservado abaixo dos -10ºC caso haja um atraso na execução da análise.

Controlos Positivo e Negativo

Cada kit é fornecido com o CONTROL + suficiente para executar uma placa de 96 poços. É fornecido puro e pode ser diluído em 1 5 antes de utilizar como um controlo. Para construir uma curva padrão, em série diluir duas vezes CONTROL + , utilizar o CONTROL - como um diluente. Consulte a uma típica curva padronizada abaixo em "Leitura e Interpretação dos Resultados e Diagnóstico"

Execução do Teste

1. Conduzir os reagentes à temperatura ambiente (18-25 °C) antes de usar.
2. Preparar WASH BUFFER (ver em óPreparação do Tampão de Lavagemö)
3. Retirar o número necessário de tiras MAMW. Voltar a selar o invólucro de alumínio de onde estas foram retiradas.
4. Pipetar 100µL da SAMPLE, controlo positivo (CONTROL + ou um positivo conhecido) e do controlo negativo (CONTROL - ou MACD), em poços individuais. Pipetando em duplicado os controlos positivos e negativos em cada série. Cobrir e incubar durante uma (1) hora à temperatura ambiente (18°C ï 25°C) em câmara húmida.
5. Durante os últimos 10 minutos do período de incubação, preparar o CONJUGATE. Adicionar 5µL de Conjugado Enzimático MAPO a 995µL de diluente do conjugado MACD misturar bem (1 mL por cada tira de 8 poços).
6. Lavar os poços, de preferência com um lavador automático de microplacas ou manualmente da seguinte forma:
   - Aspirar os conteúdos dos poços. Voltar a encher com WASH BUFFER.
   - Repetir esta operação quatro (4) vezes. Inverter a placa e bater contra papel absorvente no fim da quarta lavagem.
   - NB: Segurar bem na placa ao inverter, evitando destacar as tiras.
7. Adicionar 100µL de CONJUGATE a cada poço. Incubar durante uma (1) hora à temperatura ambiente em câmara húmida.
8. Durante os últimos dez minutos da incubação, preparar o SUBSTRATE. Adicionar 50µL de Substrato Cromogénio MASC a 950µL de Tampão de Substrato MASB misturando bem (1mL por cada tira de 8 poços). A solução mantém-se estável durante 30 minutos.
9. Repetir a lavagem. Consultar o passo 6.
10. Adicionar 100µL de SUBSTRATE , preparado no momento, e incubar no escuro (coberto) à temperatura ambiente durante 15 minutos.
11. Adicionar 50µL da Solução de Paragem MASS. Bater de leve na microplaca para misturar.
12. Ler os resultados visualmente ou através de um espectrofotometro, a 450nm ou 450nm/620nm; ler o branco contra o ar.

LEITURAS E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS E DIAGNÓSTICO

Visualmente

Observar a intensidade da cor nos poços que contêm os controlos e a amostra, respectivamente. O Controlo Positivo deve aparecer azul antes da paragem da reacção, e amarelo após a sua paragem.

Leitura Fotométrica

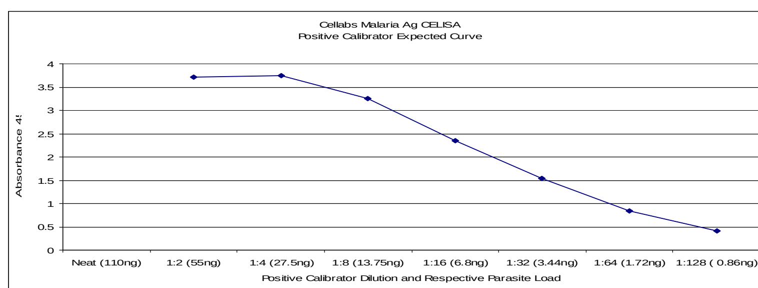
Ler a microplaca a 450nm ou 450nm / 620nm utilizando um leitor de ELISA. Ler o õbrancoò contra o ar. Para os resultados aparecerem, o Controlo Negativo deve apresentar os seguintes valores:

	Valor D.O. (450nm, 450/620nm)
Controlo Negativo	< 0.2
Cut-Off	= Controlo Negativo DO + 0.2

As amostras de sangue negativas devem apresentar leituras das densidades ópticas inferiores a 0.2 OD unidades. Recomendamos que cada laboratório analise as suas próprias amostras de sangue negativas conhecidas de modo a determinar o seu próprio cut-off positivo/negativo CELISA.

As amostras com valores de absorvâncias superiores ao valor cut-off acima mencionado são consideradas positivas para antigénios *P. falciparum*. Um resultado positivo indica a presença do antigénio *P. falciparum*, o que sugere a presença de infecção ou que esta existiu recentemente. Este teste detecta a infecção a *P. falciparum* em parasitémias até 0.001%. A intensidade da cor não é proporcional ao nível de parasitémia. As infecções a *P. vivax*, *P. ovale* e *P. malariae* não são detectadas. O teste poderá dar resultados positivos durante vários dias mesmo depois dos parasitas já não serem detectáveis no sangue.

Curva padrão típica e carga parasitária equivalente



ELIMINAÇÃO DOS RESIDUOS

Deitar fora qualquer componente que tenha sido utilizado como material de risco biológico. Para mais informações consulte a MSDS

SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE, & OUTROS DADOS DO MALARIA AG CELISA

Consultar o sumário no final do folheto de instruções. Todos os dados sobre o Malaria Ag CELISA podem ser consultados na folha de informação do produto. Contacte o distribuidor ou contacte a Cellabs.

NOTA SOBRE POSSIVEIS INDEMINIZAÇÕES

As modificações realizadas aparte do protocolo recomendado podem afectar os resultados. Um resultado positivo ou negativo não exclui a presença de outros agentes causadores subjacentes. A Cellabs e os seus distribuidores não serão legalmente responsáveis por qualquer dano nestas circunstâncias

FIGURE 1 MALARIA Ag CELISA DIAGRAM FOR USE

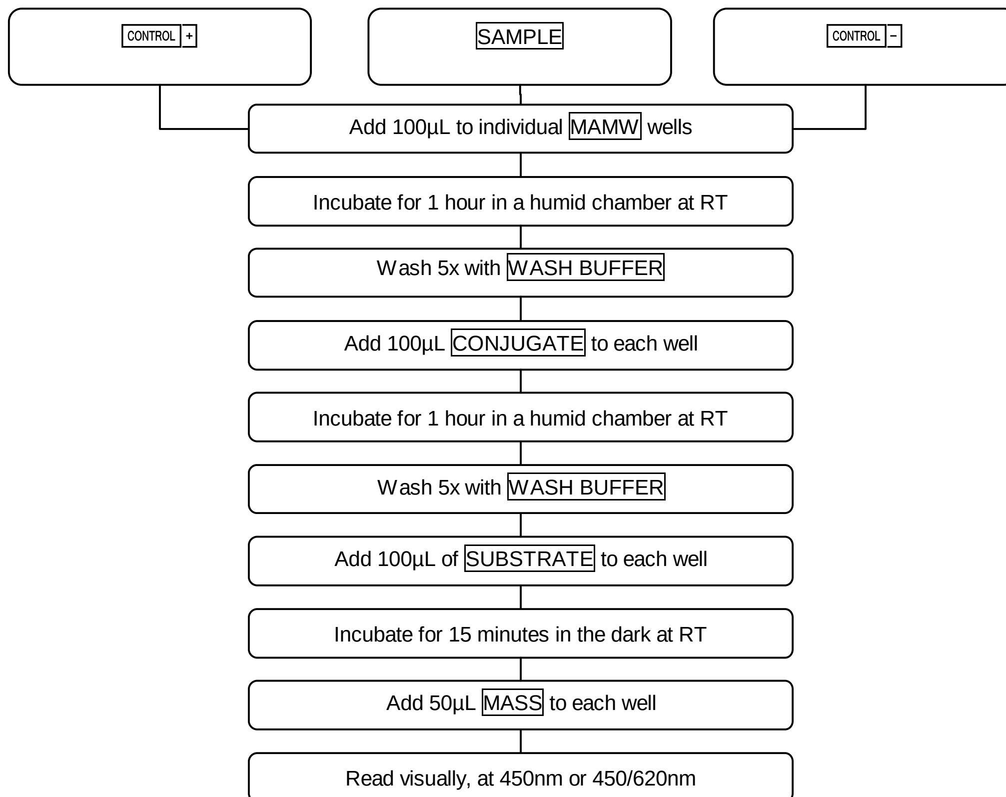


TABLE 1: SENSITIVITY, SPECIFICITY, & OTHER DATA ON THE MALARIA Ag CELISA
TABLEAU 1: SENSIBILITE, SPECIFICITE ET AUTRES DONNEES DU TEST MALARIA Ag CELISA
TABELLE 1: SENSITIVITÄT, SPEZIFITÄT UND ANDERE DATEN ZUM MALARIA Ag CELISA
TABELLA 1: SENSIBILITAô SPECIFICITAôED ALTRI DATI SULLA MALARIA Ag CELISA
TABLA 1: SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y OTROS DATOS DEL MALARIA Ag CELISA
TABELA 1: SENSIBILIDADE, ESPECIFICIDADE E OUTROS DADOS DO MALARIA Ag CELISA

Trial Essai Versuch Prova Prueba Teste	**Sensitivity** Sensibilité Sensitivität Sensibilitaô Sensibilidad Sensibilidade	**Specificity** Spécificité Spezifität Specificitaô Especificidad Especificidade	**Repeatability** Répétabilité Wiederholpräzision Ripetibilita Repetibilidad Repetição	**Reproducibility** Reproductibilité Reproduzierbarkeit Riproducibilita Reproducibilidad Reprodutibilidade
A	98.1%	96.2%	-	-
B	98%	96%	-	-
C	-	-	Positive CV = 5.65%	Positive CV = 9.72%

EXPLANATION OF SYMBOLS

Consult Instructions for Use

IVD — *In Vitro* Diagnostic Medical Device

2°C 8°C — Temperature Limitation

LOT — Batch

CONTROL + — Control Positive

CONTROL − — Control Negative

Use By/Expiration Date

Cellabs Pty Ltd
Unit 7, 27 Dale Street (PO Box 421)
Brookvale, NSW 2100 Australia
Tel: +61 2 9905 0133 Fax: +61 2 9905 6426
Web: http://www.cellabs.com.au
Email: sales@cellabs.com.au

EC REP — WMDE
Bergerweg 18
6085 AT Horn
The Netherlands

Insert Version — en fr de it es pt
LM2.17
16 July 2012

CE 0843



Do Not Re-use